

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální a makromolekulární chemie



Vladimír Ďord'ovič

Interakce metallakarboranů s biokompatibilními polymery ve
vodných roztocích

Interaction of metallacarboranes with biocompatible polymers in
solutions

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Pavel Matějček, Ph.D.

Praha 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 30.5.2011

Podpis

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli, Pavlovi Matějčíkovi, za vedení bakalářské práce, diskuze a vysvětlení různých témat, za jeho osobní přístup, pomoc, trpělivost a motivace. Taky děkuji Mariuszovi Uchmanovi za jeho čas, cenné informace a inspirace.

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá studiem vodných roztoků polymerů poly(styren)-*block*-poly(ethylen oxid), PS-PEO a poly(ethylen oxid)-*block*-poly(2-ethyl oxazolin), PEO-PEOX, o různých koncentracích a jejich interakci s metallakarboranem, sodnou solí 3-kobalt bis(1,2-dikarbollidu), NaCoD. Vznikající částice byly charakterizovány pomocí statického a dynamického rozptylu světla, mikroskopie atomárních sil a metody cryo-TEM. Zatímco PEO-PEOX je ve vodě molekulárně rozpustný, PS-PEO vytváří ve vodném roztoku micely s PS jádrem a PEO obalem. Při dialýze bylo zjištěno, že aniont CoD^- interaguje se segmenty PEO i PEOX v závislosti na koncentraci soli. Přídavek malého množství metallakarboranu vede k destabilizaci micel PS-PEO. Vodný roztok CoD^- s PEO-PEOX v 0,1M NaCl je stabilní a obsahuje monodisperzní vezikuly o poloměru 69 nm.

Abstract

The bachelor thesis deals with the behavior of aqueous solutions of polystyrene-*block*-poly(ethylene oxide), PS-PEO, and poly(ethylene oxide)-*block*-poly(2-ethyl oxazoline), PEO-PEOX, and their interaction with sodium 3-cobalt bis(1,2-dicarbollide), NaCoD. The prepared nanoparticles were characterized by static and dynamic light scattering, AFM and cryo-TEM. While PEO-PEOX is molecularly soluble in water, PS-PEO forms micelles with PS core and PEO shell. We determined by dialysis that CoD^- interacts with both PEO and PEOX segments depending on the salt concentration. Even small amount of NaCoD results in destabilization of PS-PEO micelles. On the other hand, PEO-PEOX mixtures with NaCoD in salted aqueous solutions contain vesicles with radii 69 nm.

Obsah

1. Úvod a cíl práce.....	6
2. Přehled literatury.....	7
2.1. Karborany.....	7
2.1.1. Metallakarborany.....	8
2.1.2. Metallakarborany - inhibitory HIV proteázy.....	9
2.1.3. Samouspořádání CoD^-	10
2.1.4. Interakce metallakarboranů s amfifilními systémy.....	11
2.2. Polymery.....	12
2.2.1. Vznik a chování micel blokových kopolymerů.....	12
2.2.2. Transport léčiv a blokové kopolymery.....	13
2.2.3. PS-PEO a PEO-PEOX.....	13
2.2.4. Poly(ethylen oxid).....	14
2.2.5. Poly(2-oxazolin).....	14
2.3. Rozptyl světla.....	15
2.3.1. Statický rozptyl světla.....	16
2.3.2. Dynamický rozptyl světla.....	17
3. Materiál a metody.....	19
3.1. Chemikálie.....	19
3.2. Metody.....	20
4. Výsledky a diskuse.....	21
4.1. Dialýza.....	21
4.2. Charakterizace polymerů ve vodných roztocích pomocí rozptylu světla.....	22
4.3. Charakterizace vodných roztoků polymerů po přidavku CoD^-	23
5. Závěr.....	30
Literatura.....	31

1. Úvod a cíl práce

Cílený transport léčiv se v posledních letech stává stále oblíbenější oblastí vědeckého bádání. Tato imitace přírodních procesů nám pomáhá vytvářet nová moderní léčiva s mnohem větším léčebným účinkem. Důležitou roli zde hrají asociující blokové kopolymery s amfifilní strukturou, které vytváří micely s hydrofobním jádrem a se slupkou hydrofilních řetězců, kde hydrofobní jádro může fungovat jako zásobník léčiva. Neméně zajímavou je skupina blokových kopolymerů, kde jsou oba bloky hydrofilní a micely vznikají specifickou interakcí léčiva s jedním z bloků. Nejvýhodnější jsou takové systémy, kde je uvolňování léčiva řízeno vnějšími podněty, jako je teplota, pH, nebo iontová síla.

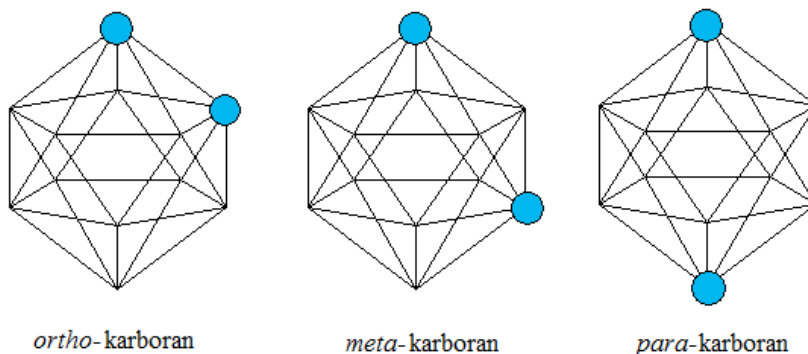
Podobné postupy se vědci snaží uplatnit i proti obávanému virovému onemocnění, AIDS. Virem HIV bylo v roce 2009 nakaženo kolem 33 milionů lidí. Vědci z Ústavu organické chemie a biochemie a Ústavu anorganické chemie AV ČR se snaží potlačit virus HIV inhibicí HIV proteázy z mnoha hledisek pozoruhodnými látkami – metallakarborany. Tyhle látky jsou však ve vodném roztoku málo rozpustné a dochází k jejich agregaci. Proto je úkolem předložené bakalářské práce i širšího výzkumu mého školitele přispět k vývoji amfifilních systémů, které budou metallakarborany ve vodných roztocích stabilizovat.

Má bakalářská práce vychází ze starších experimentálních studií a zároveň rozšiřuje poznatky o interakci metallakarboranů s biokompatibilními blokovými kopolymery. Cílem této práce bylo: (i) charakterizovat vodné roztoky polymerů poly(styren)-*block*-poly(ethylen oxid) a poly(ethylen oxid)-*block*-poly(2-ethyl oxazolin) o různých koncentracích, (ii) dialyzační stanovení poměru polymerních segmentů připadajících na jeden 3-kobalt bis(1,2-dikarbollidový) aniont, a (iii) charakterizovat částice vznikající interakcí těchto polymerů se sodnou solí 3-kobalt bis(1,2-dikarbollidu) pomocí rozptylových a mikroskopických technik.

2. Přehled literatury

2.1. Karborany

Karborany jsou polyedrální klastrové sloučeniny, jejichž struktura je tvořena atomy boru a uhlíku umístěnými ve vrcholech polyedru s trojúhelníkovými plochami a s navázanými vodíkovými atomy směřujícími od jeho středu. Struktura klastrových sloučenin boru je velmi neobvyklá, protože se zde uplatňují elektronově deficitní třístředové dvouelektronové vazby. Jedinečnost struktury klastrových sloučenin se projevuje 3D aromaticitou vazebných elektronů.¹ Mezi nejznámější karborany patří dikarba-*closo*-dodekaboran (Obr. 2.1), ve kterém jsou dvě skupiny B–H[−] nahrazeny izoelektronovými skupinami C–H. Na rozdíl od některých boranů, jsou tyto karborany neobvykle stále v přítomnosti oxidačních činidel, alkoholů a silných kyselin a vykazují značnou tepelnou stabilitu při teplotě až do 400 °C.



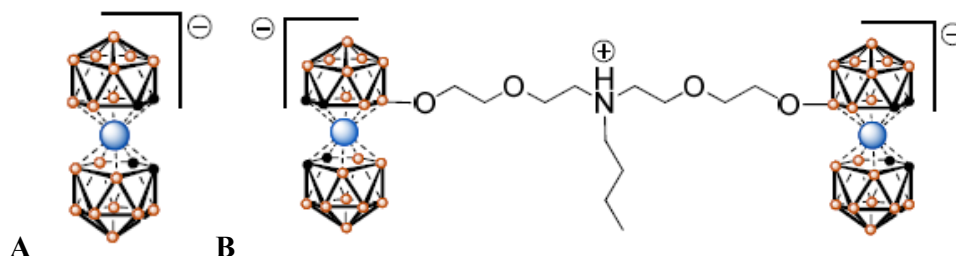
Obr. 2.1. Izomery dikarba-*closo*-dodekaboranu, C₂B₁₀H₁₂, s rozdílným umístěním uhlíků (označené modře). Koncové vodíky jsou kvůli přehlednosti vynechány.

Zajímavé vlastnosti bórových klastrů lze s úspěchem využít v mnoha aplikacích. Příprava boranů je nákladná a nalézá praktické uplatnění hlavně v oblastech, kde žádná jiná alternativa neexistuje. V padesátých a šedesátých letech se několik těchto sloučenin vyrábělo ve velkém měřítku jako palivo pro proudové nebo raketové motory.² Některé borany a jejich halogenderiváty se používaly jako zdroje boru pro dopování polovodičů na bázi křemíku typu P.³

Při léčbě rakoviny se využívají některé borany a karborany v metodě borové neutronové záchytové terapie (BNCT – Boron Neutron Capture Therapy),^{4,5,6} kde hlavní roli karboranů je nahromadění dostatečného množství boru v tkáni nádoru. Po záchytu neutronu izotopem ^{10}B vznikají alfa částice a izotop ^7Li , které ničí rakovinné buňky. Další použití karboranů je např. při radiodiagnostice v medicíně,⁷ výrobě vysoce tepelně odolných polymerů, tuhých elektrolytů nebo katalyzátorů.^{3,8-10} V posledních letech byl zájem vědců zaměřen na použití karboranů jako farmakoforů.¹¹ Vysoká odolnost vůči katabolismu, kinetická inertnost, výjimečně vysoká hydrofobicita a jiné jedinečné vlastnosti umožňují využít karboranové sloučeniny v různých biologických aplikacích, včetně inhibice HIV proteázy.^{12,13,14}

2.1.1. Metallakarborany

Metallakarborany patří podobně jako karborany do skupiny heteroboranů. Metallakarborany obsahují ve svých strukturách atomy kovu, např. Co, Fe, Cu, Re, Au a Hg.¹⁵ Centrální atom kovu se nachází v tzv. poloze „sandwich“ oproti dvěma mnohostěnným *nido*-subklastrům odvozeným například od 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu (Obr. 2.2). Na jejich povrchu je devět hydridových atomů vodíku, které nevytvářejí klasické vodíkové vazby a dva částečně kladně nabitě vodíky na atomech uhlíku.

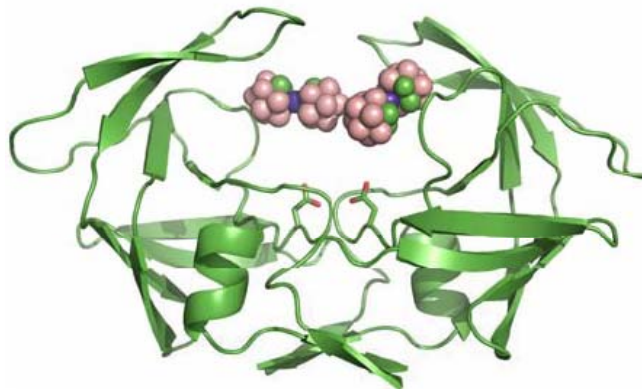


Obr. 2.2. Struktura (A) aniontu $[\text{3-cobalt bis(1,2-dicarbollide)}]^-$, CoD^- , a (B) hydrogen butyl bis-8,8-[5-(3-oxapentoxo)-3-cobalt bis(1,2-dicarbollide)]diate (1-). Barevné označení: červená – BH skupiny, černá – CH skupiny, modrá – atom kobaltu.

Předložená práce se zaměřuje na chování metallakarboranu [3-kobalt bis(1,2-dikarbollid)]⁻ aniontu, CoD^- , který byl poprvé připraven a popsán Hawthornem¹⁶ v roce 1965 a má důležité postavení mezi karborany, protože je chemicky a teplotně stabilní a má všechny důležité vlastnosti karboranů, kterými se liší od ostatních sloučenin, jako například záporný náboj delokalizovaný na velké ploše, nízká nukleofilita, superkyselost a zajímavé vlastnosti při párování iontů, které vedlo k aplikaci v extrakční chemii.^{17,18} Přítomnost delokalizovaného náboje a volně se pohybující protiionty způsobují amfifilní charakter jinak hydrofobního karboranu, aniž by anion CoD^- měl klasickou amfifilní strukturu. Kobaltakarborany vykazují vysokou afinitu ke kladně nabitým skupinám jiných molekul, např. peptidů. Borové klastry vytvářejí tzv. dvouvodíkové vazby¹⁹, které byly v nedávné době studovány kvantově-mechanickými výpočty.^{20,21}

2.1.2. Metallakarborany - inhibitory HIV proteázy

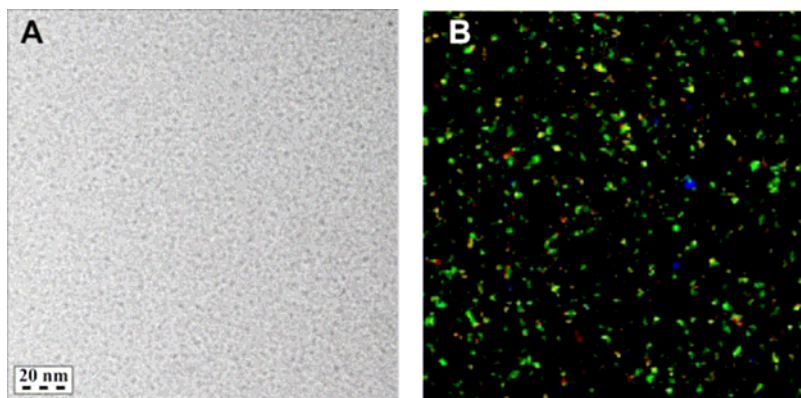
Proteáza viru lidské imunitní nedostatečnosti (HIV PR) je jedním z nejméně studovaných známých enzymů a dosud bylo naměřeno více než 200 struktur pomocí rentgenové krystalografie. PR inhibitory jsou potenciálními léčivy HIV a jejich navrhování je založeno na dobře známé symetrické struktuře tohoto dimerického enzymu. HIV PR zapříčiňuje tvorbu infekčních virových částic.²² Je nevyhnutná pro proteolytické zpracování virových polyproteinů, které probíhá v pozdějším stádiu životního cyklu viru. V současnosti existuje devět HIV PR inhibitorů schválených americkým úřadem US Food and Drug Administration.²³ Avšak stále je potřeba dalšího výzkumu nových HIV PR inhibitorů, které by byli účinnější, více specifické a hlavně méně náchylné k vyvinutí virové rezistence. Proto vedl výzkum k hledání vhodné biologicky stabilní látky, která by vhodně interagovala s vazebným místem proteázy. Těmto podmínkám vyhovuje metalla bis(dikarbollid).²⁴ Z krystalové struktury 3-kobalt bis(1,2-dikarbollidu) v komplexu s HIV PR je vidět, že pro vhodnou vazbu na aktivním místě HIV PR jsou nutné dva kobaltakarborany (Obr. 2.3). Kvůli tomu byly připraveny i další kobaltakarborany, např. s dvěma klastry CoD^- spojenými krátkým řetězcem (Obr. 2.2 B).



Obr. 2.3. Krystalová struktura vazby dvou iontů CoD^- v dimerické formě HIV proteázy.²⁵

2.1.3. Samouspořádávání CoD^-

Značný amfifilní charakter CoD^- zapříčiňuje jeho povrchovou aktivitu a spontánní samouspořádávání ve vodních roztocích, i když je sodná sůl velmi dobře rozpustná.^{26,27} Rozptylem světla a mikroskopickými technikami bylo pozorováno, že NaCoD vytváří ve vodném roztoku velké částice o poloměru přibližně 100 nm. Vnitřní struktura těchto velkých nanočástic není doposud jednoznačně objasněna. Použitím metody SAXS (Small Angle X-ray Scattering) bylo zjištěno, že velké agregáty jsou složeny z kompaktních podjednotek, tvořených několika molekulami karboranu (2 – 5).²⁵ Na velikost částic má také vliv koncentrace, iontová síla, stárnutí roztoku a teplota. Substituce na CoD^- klastru často vede ke značnému snížení rozpustnosti a k tvorbě nanočástic ve vodě s hydrodynamickým poloměrem od 60 do 210 nm.²⁸ Nanočástice vzniklé agregací NaCoD a jeho konjugátu s fluoresceinem jsou viditelné pomocí techniky cryo-TEM a fluorescenční spektroskopie (Obr. 2.4). Vznikající agregáty způsobují významný pokles koncentrace inhibitoru a může také způsobit i jiné problémy pro živé organismy. Proto bylo cílem k úspěšnému využití těchto látek příprava termodynamicky stabilního, ve vodě rozpustného komplexu borových klastrů s jinými amfifilními systémy.



Obr. 2.4. (A) Cryo-TEM sken vodného roztoku NaCoD.²⁵ (B) Snímky agregátů konjugátu NaCoD s fluoresceinem ve vodném prostředí získané fluorescenčním mikroskopem.²⁹

2.1.4. Interakce metallakarboranů s amfifilními systémy

Problém s agregací metallakarboranů je řešen použitím biokompatibilních amfifilních systémů, např. surfaktantů²⁷, cyklodextrinů^{29,30}, fosfolipidových membrán²⁹ a polymerů.^{28,31,32} Prostřednictvím těchto látek metallakarborany deagregují a vytvářejí rozpustné komplexy.

Aniont $[3\text{-kobalt bis}(1,2\text{-dikarbolliid})]^-$ interaguje a vytváří stabilní komplex s poly(ethylen oxidem)³¹, PEO, který je jedním z nejvíc používaných polymerů v systémech pro transport léčiv. Vznikající komplex PEO/CoD^- je ve vodném roztoku nerozpustný. Množství vyloučené látky závisí na koncentraci kationtů kovu alkalických nebo alkalických zemin. Tvorba komplexu je výsledkem několika faktorů, jako např. vznik dvojvodíkové vazby mezi záporně nabitými vodíkovými atomy vázanými na atom boru a částečně kladně nabitými vodíkovými atomy v jednotce poly(ethylen oxidu) $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$. Důležitý je také vliv sodných kationtů, které interagují s atomem kyslíku v PEO.

Při použití blokového kopolymeru s oběma hydrofilními bloky - poly(ethylen oxid)-*block*-poly(metakrylová kyselina), PEO-PMA, ve vodném roztoku s NaCoD dochází ke vzniku nanočástic s nerozpustným jádrem tvořeným PEO/CoD^- komplexem.^{31,32} Obal nanočástic je v zásaditých pufrch tvořen záporně nabitými řetězci PMA. PMA neinteragují s NaCoD a stabilizují částice ve vodném roztoku.

Jádra částic nejsou úplně zamrzlá, metallakarborany mohou difundovat do a z nanočástic při změně koncentrace soli.

2.2. Polymery

2.2.1. *Vznik a chování micel blokových kopolymerů.*

Amfifilní blokové kopolymery tvoří v selektivních rozpouštědlech micely, což jsou kulovité, v některých případech cylindrické, útvary obsahující desítky až stovky molekul polymeru. Selektivní rozpouštědlo je takové, které rozpouští jeden blok kopolymeru, zatímco pro druhý je srážedlem. Micelizace blokových kopolymerů byla podrobně studována pomocí rozptylu světla, maloúhlového rozptylu paprsků X, rozptylu neutronů, ultracentrifugace, elektronové mikroskopie a dalších experimentálních metod, stejně jako pomocí počítačových simulací.³³⁻³⁵ Samotná micela se skládá z kompaktního jádra tvořeného nerozpustnými bloky a solvované slupky, která stabilizuje micelu v roztoku.

Agregační číslo micel je dáno kvalitou rozpouštědla, kompatibilitou bloků a poměrem délek těchto bloků. Zjednodušeně lze předpokládat, že kopolymer s převahou segmentů dobře interagujících s rozpouštědlem bude tvořit micely s malým agregačním číslem a naopak u kopolymeru s dlouhými nerozpustnými bloky bude agregační číslo relativně velké. Důležitým rozpouštědlem v mnoha aplikacích (zejména biomedicínských) je voda. Protože se jedná o velmi polární rozpouštědlo, je většina blokových kopolymerů obsahujících dlouhý hydrofobní blok nerozpustná ve vodě, i když druhý blok je dobře rozpustný. V těchto případech lze připravit definované a monodisperzní micely ve vodných roztocích nepřímo, například dialýzou, nebo v případě velmi krátkých hydrofobních bloků zahřátím nad teplotu skleného přechodu.

Vodorozpustný blok tvořící micelární slupku může být elektroneutrální polymer, např. poly(ethylen oxid), PEO. Dále to může být polyelektrolyt a to buď polykyselina, nebo polyzásada, polyelektrolyt může být silný nebo slabý. Zkolabovaný polymer v micelárním jádře se může nacházet pod nebo nad teplotou

skelného přechodu T_g , přičemž její hodnota se může pro jádro obsahující menší počet polymerních řetězců lišit od hodnoty pro kompaktní polymer.^{36,37}

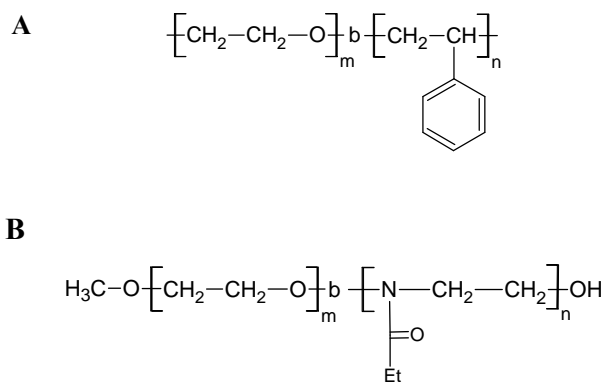
Nejčastěji byla studována micelizace lineárních dvojblokových kopolymerů, nicméně byly syntetizovány a studovány také takzvané kopolymery se složitější architekturou.³⁸

2.2.2. *Transport léčiv a blokové kopolymery*

Mezi různými nosiči používaných v systémech pro transport léčiv je v posledních letech zvyšující se zájem o samouspořádávání blokových kopolymerů. Polymerní micely mají podobné vlastnosti jako biologické přenašeče. Hydrofilní obal jim pomáhá zůstat nerozpoznanými v krevním oběhu.³⁹ Jejich rozměry (< 100 nm) brání pohlcení retikuloendoteliálním systémem a umožňuje unik prosakujícími kapilárami, co vede k jejich pasivnímu ukládání v určitých tkáních.⁴⁰ Malé rozměry taky ulehčují další penetraci micelárních nosičů do buněk. Inkorporace rozpoznatelných částí na povrch micel nebo vývoj tepelně a pH citlivých kopolymerů vedl k vylepšeným specifickým buněčným interakcím na aktivním místě cíle. Polymerní micely jsou taky používány pro transport genů a mají velký potenciál pro směřování léčiv k subcelulárním cílům.⁴¹

2.2.3. *PS-PEO a PEO-PEOX*

Poly(styren)-*block*-poly(ethylen oxid), PS-PEO a poly(ethylen oxid)-*block*-poly(2-ethyl oxazolin), PEO-PEOX, jsou biokompatibilní blokové kopolymery (Obr. 2.5). Bloky segmentů PEO a PEOX jsou hydrofilní, zatímco PS je hydrofobní. Z amfifilní struktury PS-PEO vyplývá, že ve vodném prostředí vytváří micely s jádrem (PS) a obalem (PEO). PEO-PEOX ve vodném roztoku samovolně netvoří micely, je molekulárně rozpustný. Větší částice, resp. micely může tvořit jenom po přidání další specifické látky, která interaguje s jedním z bloků za vzniku nerozpustného komplexu.³¹



Obr. 2.5. Chemická struktura polymerů (A) poly(styren)-*block*-poly(ethylen oxid), PS-PEO a (B) poly(ethylen oxid)-*block*-poly(2-ethyl oxazolin), PEO-PEOX.

2.2.4. Poly(ethylen oxid)

Poly(ethylen oxid), PEO, (v biochemii často nazýván jako poly(ethylen glykol), PEG) je nejčastějším polymerem v systémech pro transport léčiv. Pro takové systémy je PEO výhodným biokompatibilním hydrofilním blokem v kopolymerech, kde hmotnost bloku PEO je od 1000 do 20 000 g/mol. Výběr hydrofobního bloku tvořícího jádro může být různý a délka je obvykle stejná nebo kratší než blok PEO. Nejznámější kopolymer PEO je Pluronic[®], poly(ethylen oxid)-*block*-poly(propylen oxid)-*block*-poly(ethylen oxid), PEO-*b*-PPO-*b*-PEO, který je používán k rozpuštění různých léčiv.⁴² Dalšími PEO kopolymery v systémech pro transport léčiv jsou např. PEO-*block*-polyestery, PEO-*block*-poly(kaprolakton), PEO-*b*-PCL nebo PEO-*block*-poly(laktid), PEO-*b*-PLA.⁴³

2.2.5. Poly(2-oxazoliny)

Živá kationtová polymerizace (ROP) 2-oxazolinu byla objevena už v šedesátých letech. Avšak jejich široké uplatnění bylo limitováno jejich relativně vysokou cenou. V nedávné době byl zájem o tyto polymery znovuzrozen, hlavně díky jejich biokompatibilitě a specifickému chování.⁴⁴ Nosiče léčiv jsou často

funkcionalizované s PEO (tzv. PEGylace) aby získali „neviditelnost“ v lidském těle potlačením všech interakcí, např. s proteiny nebo imunitním systémem (stealth behavior).⁴⁵ Výsledkem takového chování skrytých částic je postupné a pomalé uvolňování léčiva. Podobné chování poly(2-oxazolinů) vedlo k alternativní metodě POXylaci. Výhodou oproti PEO je, že vlastnosti poly(2-oxazolinů) mohou být různě modifikované postranným řetězcem 2-oxazolinového monomeru.

Zkoumány byly taky micely blokových kopolymerů, např. poly(2-ethyl oxazolin)-*block*-poly(ϵ -kaprolakton) pro rozpouštění protirakovinného léčiva⁴⁶ nebo poly(2-ethyl oxazolin)-*block*-poly(ethylenimin) pro transport genů.⁴⁷ Při některých kopolymerech s blokem poly(2-ethyl oxazolin) byla pozorována citlivost na pH a na teplotu.

2.3. Rozptyl světla

Rozptyl světla je jednou z nejúčinnějších nedestruktivních metod používaných ve fyzikální chemii makromolekul. Je to metoda velmi propracovaná, analýzou naměřených dat získáme informace o makromolekulách v roztoku, které jsou těžko dostupné jinými metodami. Metoda rozptylu světla se dělí na dynamický a statický rozptyl. Úspěšné měření rozptylu světla v roztocích makromolekul je vždy komplikováno přítomností prachových částic. Ty se nejčastěji odstraňují filtrací membránovými filtry. To s sebou přináší komplikaci v podobě adsorpce polymeru na filtr, což nekontrolovatelně změní koncentraci vzorku v roztoku. Další možností jak odstranit prach je opatrná centrifugace, nebo příprava vzorků v bezprašném prostředí.

Statický rozptyl světla (SLS – Static Light Scattering) – ze závislosti intenzity rozptýleného záření na úhlu nebo koncentraci získáváme hmotově váženou molární hmotnost rozptylujících částic M_w , jejich gyrační poloměr R_g a druhý viriální koeficient A_2 .

Dynamický (kvazielastický) rozptyl světla (DLS – Dynamic Light Scattering, nebo taky QELS - Quasi-Elastic Light Scattering) – z výsledků měření fluktuací intenzity rozptýleného záření získáváme difúzní koeficient a hydrodynamický poloměr částic.

2.3.1 Statický rozptyl světla

Rozptyl světla je způsoben oscilací indukovaného dipólového momentu při interakci elektromagnetického záření (laserový paprsek) s hmotou. Během měření statického rozptylu světla zaznamenáváme úhlovou závislost intenzity rozptýleného světla v horizontální rovině, přičemž měřenou veličinou je Rayleighův poměr R :

$$R \equiv I_s r^2 / I_0, \quad (1)$$

kde I_s je intenzita rozptýleného záření vztažená na jednotkový objem, I_0 intenzita primárního paprsku a r vzdálenost pozorovatele od rozptylujícího místa. V pravidelně uspořádaném systému (monokrystal) má nenulovou intenzitu pouze záření rozptýlené ve stejném směru jako primární paprsek (rozptylový úhel θ je roven nule), záření v ostatních směrech je potlačeno destruktivní interferencí. V kapalinách, kde se uspořádanost, která existuje pouze na krátkých vzdálenostech, ztrácí vlivem fluktuací na větší škále vzdáleností, je světlo rozptylováno také do směrů s nenulovým úhlem. Pomocí standardních postupů statistické termodynamiky byla odvozena Zimmova rovnice^{48,49} (2)

$$Kc/R_\theta = P^{-1}(\theta)/M_2 + 2A_2c + \dots, \quad (2)$$

kde $P(\theta)$ je rovno

$$P(\theta) = 1 - (1/3)q^2 R_g^2 + \dots, \quad (3)$$

kde $P(c, \theta)$ je částicový faktor, A_2 je druhý viriální koeficient, R_g je gyrační poloměr a q je rozptylový vektor, jehož velikost je rovna $(4\pi n/\lambda)\sin(\theta/2)$.

Rovnice (2) umožňuje pomocí metody Zimmových sítí vypočítat z naměřených hodnot Rayleighova poměru pro různé úhly a různé koncentrace polymeru hmotově váženou molární hmotnost rozptylujících částic M_w , jejich gyrační poloměr R_g a druhý viriální koeficient A_2 . Vlnová délka rozptylovaného záření, λ , vymezuje význam částicového faktoru. Jestliže je rozptylující částice menší než $\lambda/20$, pak je intenzita elektromagnetického pole v oblasti částice téměř konstantní a zdroj rozptýleného světla můžeme považovat za bodový. V těchto případech je částicový faktor prakticky roven jedné a gyrační poloměr z něho nelze vyhodnotit.

2.3.2 Dynamický rozptyl světla

Dynamický rozptyl světla je založen na vztahu mezi fluktuacemi intenzity rozptýleného záření, $I(t)$, a pohybem makromolekul v roztoku.⁵⁰ Výstupem měření je normalizovaná intenzitní autokorelační funkce, $g_2(t')$, která je definována:

$$g_2(t') = \frac{\int_0^\infty I(t'+t)I(t)dt}{\int_0^\infty I^2(t)dt}. \quad (4)$$

Funkce $g_2(t')$ je ve vztahu s korelační funkcí elektrického pole, $g_1(t')$, dle Siegertovy rovnice

$$g_2(t') = 1 - \beta g_1^2(t'), \quad (5)$$

kde β je parametr odchylky od ideální korelace. V nejjednodušším případě pro sférickou monodispersní částici je funkce $g_1(t)$ monoexponenciální

$$g_1(t) = \exp(-\Gamma t), \quad (6)$$

přičemž Γ je relaxační rychlost úměrná translačnímu difusnímu koeficientu rozptylující částice, D , pro který platí

$$D^{\text{eff}} = \Gamma/q^2, \quad (7)$$

$$D = \lim_{c, q \rightarrow 0} D^{\text{eff}}, \quad (8)$$

kde D^{eff} je zdánlivý difusní koeficient. Z hodnoty difusního koeficientu extrapolované na nulový úhel a nulovou koncentraci polymeru můžeme vypočítat hydrodynamický poloměr, R_H , podle Stokesovy – Einsteinovy rovnice

$$R_H = (k_B T) / (6\pi \eta D), \quad (9)$$

kde k_B je Boltzmannova konstanta, T je teplota a η je viskozita rozpouštědla.

3. Materiál a metody

3.1. Chemikálie

Tabulka 3.1. Označení a názvy použitých blokových kopolymerů

Označení	Název polymeru
PS-PEO 1	Poly(styren)- <i>block</i> -poly(ethylen oxid)
PS-PEO 2	Poly(styren)- <i>block</i> -poly(ethylen oxid)
PEO-PEOX	Poly(ethylen oxid)- <i>block</i> -poly(2-ethyl oxazolin)

Použité blokové kopolymery (viz označení v Tabulce 3.1) PS-PEO 1 a PEO-PEOX byly zakoupeny od Polymer Source Inc., Dorval, Quebec, Kanada. Vzorek PS-PEO 2 připravil Prof. C. Tsitsilianis na University of Patras v Řecku a byl poskytnut v rámci spolupráce. Jejich struktura je uvedena na Obr. 2.5 v kapitole Přehled literatury. Jejich charakterizace je uvedena v Tabulce 3.2 (polydispersita vzorku PS-PEO 2 nebyla Prof. Tsitsilianisem poskytnuta).

Tabulka 3.2. Charakterizace použitých blokových kopolymerů poskytnuté výrobcem

Označení	M_w/M_n	$^*M_n, ^+M_w$
PS-PEO 1	1,05	* PS (3600) – PEO (67 000)
PS-PEO 2	-	$^+$ PS (3200) – PEO (20 400)
PEO-PEOX	1,4	* PEO (5000) – PEOX (6500)

Vodné roztoky polymerů byly připraveny přímým rozpuštěním tuhého vzorku polymeru v destilované vodě, nebo roztoku NaCl. Roztoky byly půl hodiny sonifikovány a pak 2 dny zahřívány na olejové lázni při 60 °C do úplného rozpuštění. Pak byly roztoky přefiltrovány přes membránový filtr s velikostí pórů 0.45 μm.

Sodná sůl 3-kobalt bis(1,2-dikarbollidu), NaCoD, ($M = 346,74$, obsah krystalové vody 16 hm.-%) byla poskytnuta Dr. Bohumírem Grünerem. Byl připraven zásobní vodný roztok o koncentraci 0,0242 M, kterým byly titrovány roztoky polymerů.

K přípravě roztoků byla použita deionisovaná voda připravená pomocí reversní osmózy a NaCl (p.a. ACS, Fluka).

3.2. Metody

Rozptyl světla (SLS, DLS)

Aparatura pro měření rozptylu světla ALV 5000 (Langen, Německo), která umožňuje současné měření statického a dynamického rozptylu světla, se sestává z He-Ne laseru ($\lambda = 633 \text{ nm}$), fotonásobiče, goniometru a autokorelátoru. Cylindrická kyveta se vzorkem v ose goniometru je umístěna v termostatované lázni obsahující toluen. Měření byla provedena pro různé úhly a koncentrace polymerů. Roztoky byly před měřením kvůli odstranění prachových částic filtrovány přes membránový filtr.

Mikroskopie atomárních sil (AFM)

Měření byla provedena Ing. Mariuszem Uchmanem Ph.D. na mikroskopu Digital Instruments NanoScope dimensions 3, vybaveného křemíkovou konzolou s hrotem s typickou pružinovou konstantou 40 Nm^{-1} . Vzorky byly připraveny rychlým ponořením čerstvě rozštípnuté slídy do roztoku polymeru a následným usušením ve vakuové sušárně. Všechny vzorky byly měřeny v Tapping Mode AFM na vzduchu za laboratorní teploty. Slída pochází z geologické sbírky PřF UK v Praze: muskovit – $\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{F},\text{OH})_2$.

Cryo-transmisní elektronová mikroskopie (cryo-TEM)

Měření provedli Dr. Antti Nykänen a Prof. Janne Ruokolainen, Aalto University, Finsko, na mikroskopu Jeol JEM-3200 FSC. $1 \mu\text{l}$ roztoku byl nanesen na měděnou síťku pokrytou uhlíkovou membránou a zmražen ve směsi kapalného propanu a ethanu ($-180 \text{ }^\circ\text{C}$). Poté byl vzorek přenesen do mikroskopu a měřen při teplotě $-88 \text{ }^\circ\text{C}$. Snímky byly zaznamenány kamerou Gatan Ultrascan 4000 při napětí 300 kV .

Spektrofotometrická měření

Absorpční spektra v UV-Vis oblasti byla změřena na spektrofotometru HPUV 8452A Diode Array Spectrophotometer (Hewlett Packard, Německo) v křemenných kyvetách (Suprasil) o optické dráze 1 cm .

4. Výsledky a diskuse

4.1. Dialýza

Pro kvantitativní stanovení tvorby komplexu polymerů s 3-kobalt bis(1,2-dikarbollidovým) aniontem, CoD^- , byla provedena dialyzační měření. Semipermeabilní membrána byla naplněna vodným roztokem polymeru o koncentraci 2 g/L a byla vložena do roztoku s nadbytkem NaCoD. Byly připraveny tři sady dialyzačních lázní s různými koncentracemi NaCl: 0,1 M; 0,01 M a 0 M (čistá voda). Množství vznikajícího komplexu bylo vypočítané z poklesu absorbance roztoku NaCoD naměřené UV-VIS spektrofotometrem při vlnové délce maxima CoD^- $\lambda = 282$ nm. Pokles absorbance je velmi pomalý a dosáhne rovnováhy v čase delším než 300 h. Proces je řízen pomalým průnikem CoD^- aniontů skrz membránu. Získané hodnoty poměrů látkového množství segmentů polymeru k látkovému množství CoD^- , $n(\text{seg})/n(\text{CoD}^-)$, po 430 h dialýzy jsou v Tabulce 4.1. Pro polymery PS-PEO 1 a 2 byly hodnoty látkového množství segmentů vypočítány jenom pro segmenty PEO bloku, který jako jediný interaguje s CoD^- . V případě PEO-PEOX byly hodnoty látkového množství segmentů vypočítány pro všechny segmenty dohromady, protože CoD^- interaguje jak s PEO tak PEOX blokem. Složení komplexu metallakarboranu s PEO a PEOX bloky bylo stanoveno zvlášť s příslušnými homopolymery se srovnatelnou délkou řetězce. Z dat v Tabulce 4.1 je zřejmé, že interakce CoD^- s PEO-PEOX je složitější než prostý součet příspěvků od jednotlivých bloků. Dále jsme pozorovali, že komplex s PEOX je na rozdíl od PEO rozpustný ve vodě.

Tabulka 4.1. Průměrný počet polymerních segmentů připadajících na jeden CoD^- v komplexu, $n(\text{seg})/n(\text{CoD}^-)$.

	PS-PEO 1	PS-PEO 2	PEO-PEOX	PEOX ^a	PEO ^a
bez NaCl	126	226	19,0	27	500
0,01 M roztok NaCl	13,6	11,4	17,5	8,5	17,5
0,1 M roztok NaCl	8,9	8,4	6,25	8,8	11

^a soukromé sdělení Pavla Matějčka

4.2. Charakterizace polymerů ve vodných roztocích pomocí rozptylu světla

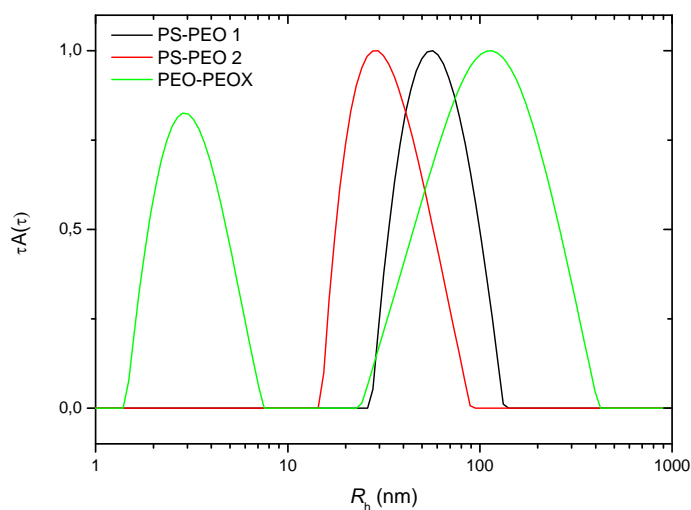
Chování blokových kopolymerů PS-PEO 1, PS-PEO 2 a PEO-PEOX ve vodných roztocích bylo studováno pomocí metod statického a dynamického rozptylu světla (SLS a DLS). Dynamickým rozptylem světla byly získány hodnoty hydrodynamického poloměru pro různé koncentrace polymeru (Tab. 4.2). PS-PEO 1 a 2 vytváří micely složené z většího počtu polymerních řetězců (viz níže výsledky SLS). Intenzita rozptylu pro nízké koncentrace polymeru PEO-PEOX byly natolik malé, že nebylo možné vyhodnotit R_h . Při nejvyšší koncentraci (2 g/L) byli rozptylem zjištěny dva typy částic s hydrodynamickým poloměrem 3,1 nm a 136,0 nm. Je však důležité poznamenat, že u polydisperzních vzorků metoda rozptylu podceňuje menší částice, proto je pravděpodobné, že částic o poloměru 3 nm je v roztoku naprostá většina. Distribuce velikostí částic jsou znázorněny na Obrázku 4.1. V Tabulce 4.3 jsou hodnoty gyračního poloměru, hmotnostně střední molární hmotnosti a vypočtené hodnoty agregačního čísla N^{agg} získané z měření SLS pro vzorky PS-PEO 1 a 2. Pro polymer PEO-PEOX nebylo možné z principiálních důvodů SLS data vyhodnotit.

Tabulka 4.2. Závislost hydrodynamického poloměru částic na koncentraci polymeru po extrapolaci na nulový úhel (výsledky DLS).

Koncentrace / g/L	R_h (PS-PEO 1) / nm	R_h (PS-PEO 2) / nm	R_h (PEO-PEOX) / nm
2	57,52	31,60	3,1 + 136,0
1	60,48	34,45	-
0,5	65,42	34,60	-
0,25	62,95	34,46	-
0,125	74,25	31,74	-

Tabulka 4.3. Gyrační poloměr částic polymerů, jejich hmotnostně střední molární hmotnost a agregační číslo (výsledky SLS).

Polymer	R_g / nm	M_w / g/mol	N^{agg}
PS-PEO 1	48,35	$6,9 \cdot 10^6$	98
PS-PEO 2	24,16	$5,7 \cdot 10^6$	241



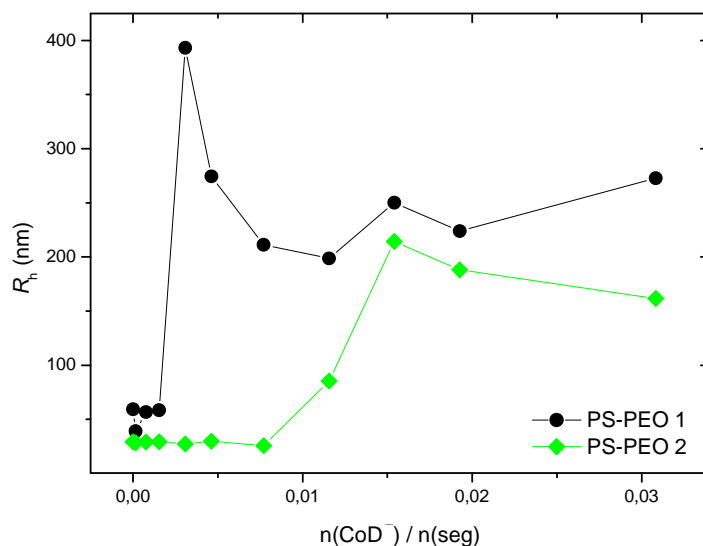
Obr. 4.1. DLS distribuce velikostí částic vznikajících ve vodném roztoku polymerů o koncentraci 2 g/L při úhlu 90°.

Z výsledků je zřejmé, že polymery PS-PEO 1, resp. PS-PEO 2 ve vodném roztoku vytvářejí monodisperzní micely o poloměru přibližně 65 nm, resp. 33 nm. To lze očekávat z jejich amfifilní struktury, která je předpokladem pro vznik micel. Hydrofobní blok PS vytváří micelární jádro a hydrofilní PEO tvoří obal micely. Polymer s kratším PEO blokem (PS-PEO 2) vytvářejí micely s větším agregačním číslem než polymer PS-PEO 1. V případě PEO-PEOX je chování ve vodných roztocích jiné. PEO-PEOX je molekulárně rozpustný, netvoří micely. Ve vodném roztoku jsou malé částice o velikosti 3 nm, které pravděpodobně odpovídají samotným řetězcům polymeru a velmi malá frakce nedefinovatelným agregátům.

4.3. Charakterizace vodných roztoků polymerů po přidavku kobalt bis(dikarbollidového) aniontu

Roztoky jednotlivých polymerů o koncentraci 2 g/L byly titrovány roztokem NaCoD o koncentraci 0,0242 M. V dalším textu jsou zvlášť uvedeny výsledky pro PS-PEO a pro PEO-PEOX. Polymery PS-PEO 1 a 2 byly připraveny pouze v 0,1M roztoku NaCl, protože v čisté vodě téměř nedochází k tvorbě komplexu s NaCoD (viz

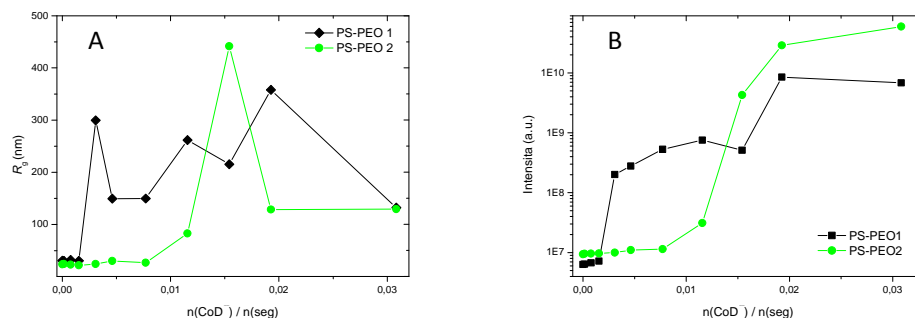
Tab. 4.1). Při nízkých koncentracích NaCoD se rozměr částic příliš nelišil od velikostí původních micel (58 nm pro PS-PEO 1 a 28 nm pro PS-PEO 2). Hydrodynamický poloměr částic (Obr. 4.2) začal růst, když poměr látkového množství CoD^- k látkovému množství PEO segmentů byl 0,003 pro PS-PEO 1 a 0,011 pro PS-PEO 2. To znamená, že PS-PEO 1 s delšími PEO bloky se srážel při nižší koncentraci metallakarboranu než PS-PEO 2 s kratšími řetězci. Chování roztoků po skončení titrace tento jev potvrdil, když po měsíci byl roztok PS-PEO 1 téměř úplně vysrážen, zatímco roztok PS-PEO 2 byl viditelně stabilnější. Následným zvyšováním koncentrace dosáhli vznikající částice poloměr zhruba 200 nm (PS-PEO 1) a 180 nm (PS-PEO 2). Větší poloměr částic PS-PEO 1 při všech koncentracích je zřejmý z délky řetězců PEO řetězců v micelární slupce (viz složení polymerů).



Obr. 4.2. Závislost hydrodynamického poloměru částic na poměru látkového množství CoD^- a látkového množství PEO segmentů polymeru.

Předpokládá se, že CoD^- interaguje jenom se segmenty PEO a je pravděpodobné, že nerozpustný CoD^-/PEO komplex vytváří vrstvu kolem PS jádra. Množství PEO segmentů, které stabilizují micely v roztoku se tím značně sníží a to vede ke vzniku velkých micelárních agregátů. To je potvrzeno i daty získanými metodou SLS. Gyrací poloměr a intenzita rozptylu úměrná hmotnosti částic jsou na Obrázcích 4.3 A, B. Tvar závislostí je zde srovnatelný s Obrázkem 4.2 pro hydrodynamický poloměr. Výrazný vzrůst intenzit znázorněný na Obrázku 4.3 B

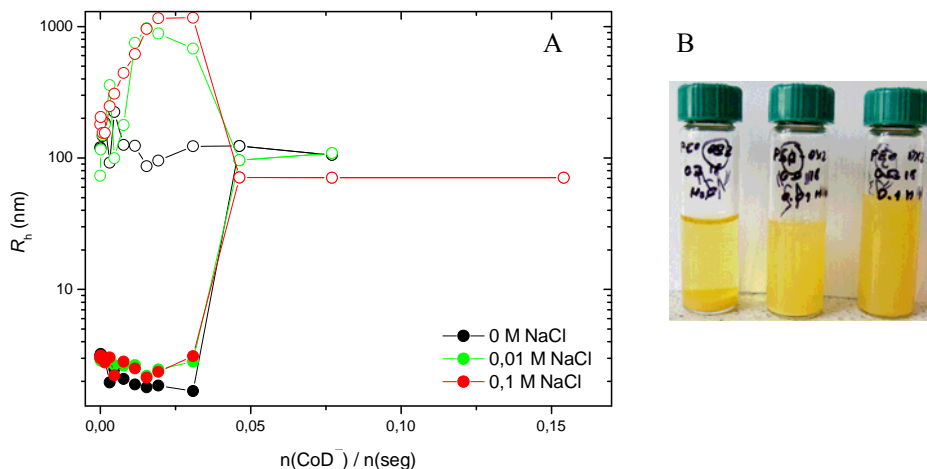
prokazuje, že vzrůst hydrodynamických poloměrů po dostatečně vysokém přidavku NaCoD je způsoben vznikem nanočástic s mnohem větším agregačním číslem než původní micely. Naše závěry však mohou být pouze kvalitativní, protože během titrace se mění kontrastní faktor. Ten nebyl pro vzorky obsahující NaCoD měřen a proto nemohlo být stanoveno přesné agregační číslo vznikajících nanočástic.



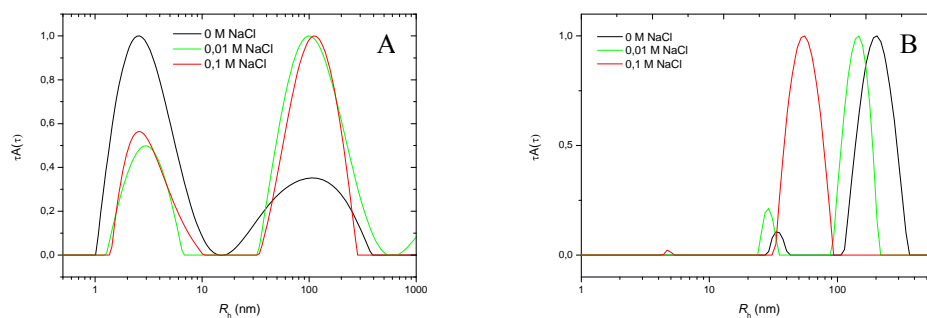
Obr. 4.3. Závislost (A) gyračního poloměru částic a (B) LS intensity částic úměrné molekulové hmotnosti na poměru látkového množství CoD^- a látkového množství PEO segmentů polymeru.

Polymer PEO-PEOX byl zkoumán podrobněji, protože interakce PEOX s CoD^- nebyla dosud studována. Tento polymer má na rozdíl od PS-PEO oba bloky hydrofilní a biokompatibilní. Připraveny byly tři vodné roztoky PEO-PEOX s NaCl o různých koncentracích soli: 0 M; 0,01 M a 0,1 M NaCl pro zjištění vlivu NaCl na vznik polymerních nanočástic. Na rozdíl od polymerů PS-PEO, rozptylem světla byly zjištěny dva typy částic (Obr. 4.4 A). Při nízkých koncentracích NaCoD jsou v roztoku přítomny částice s poloměrem cca 2 nm, ale také nezanedbatelná frakce velkých částic, jejichž velikost závisí na koncentraci soli. Když koncentrace NaCoD dosáhla poměru 0,046 karboranu na jeden polymerní segment, velikost částic se „sjednotila“. Malé částice vymizely a vznikly částice s poloměrem 123 nm, 96 nm a 71 nm pro 0M; 0,01M a 0,1M roztok NaCl. Při ještě vyšší koncentraci NaCoD (0,15 $\text{CoD}^-/\text{seg.}$) zůstal stabilní pouze 0,1M roztok NaCl s úzkou distribucí částic o poloměru 69 nm. Roztok v čisté vodě a 0,01M NaCl se vysrážel, jelikož vzniklé nanočástice byly nestabilní a jejich spojením vynikl gel (Obr. 4.4 B vlevo a uprostřed; sraženina na dně lahvičky). Distribuce velikostí částic v roztocích o různé koncentraci soli s nízkým obsahem NaCoD jsou znázorněny na Obrázku 4.5 A. Z grafů je patrné, že všechny roztoky obsahují minimálně dva typy nanočástic, přičemž velké částice

nejdou příliš stabilní a mohou dále agregovat. Na Obrázku 4.5 B jsou distribuce velikostí nanočástic studovaného systému s velkým obsahem metallakarbonanu. V roztocích je převážně jeden typ částic s relativně malou polydispersitou.



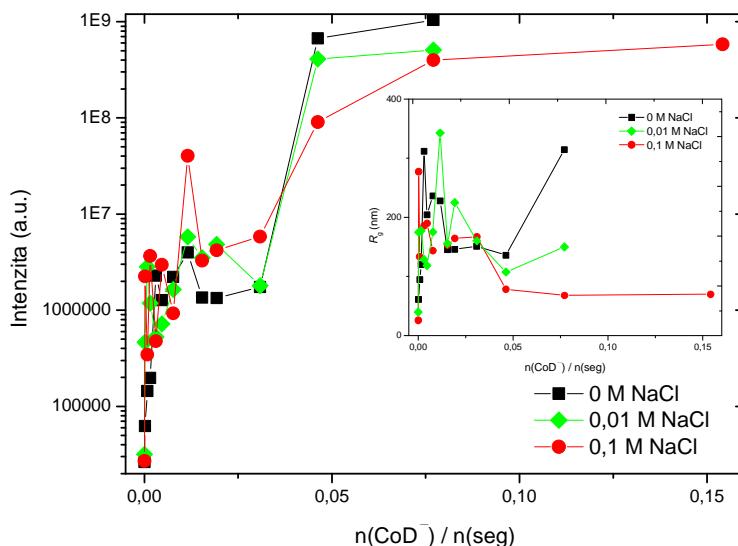
Obr. 4.4. (A) Závislost hydrodynamického poloměru částic při různých koncentracích soli na poměru látkového množství CoD^- a látkového množství všech segmentů polymeru. (B) Vodné roztoky PEO-PEOX (2 g/L) s poměrem 0,077 CoD^-/seg . o koncentracích soli (zleva) 0 M; 0,01 M a 0,1 M NaCl.



Obr. 4.5. DLS distribuce velikostí částic vznikajících ve vodném roztoku PEO-PEOX (2 g/L) s poměrem (A) 0,0015 a (B) 0,077 CoD^-/seg . pro různé koncentrace soli, při úhlu 90° .

Závislost intenzity rozptylu světla na poměru CoD^-/seg . (Obr. 4.6) má podobný průběh, jako závislost hydrodynamického poloměru. K výraznému nárůstu intenzity dochází při poměru 0,046 CoD^-/seg . To znamená, že průměrná molekulová hmotnost částic se při této koncentraci NaCoD zvyšuje, což potvrzuje předcházející předpoklad zániku malých částic o poloměru cca 2 nm (pravděpodobně volné řetězce)

a vzniku větších a těžších částic. Z Obrázku 4.6 taky vyplývá, že větší typ částic existující v oblasti nízkých koncentrací NaCoD je zastoupený početně méně oproti malým řetězcům PEO-PEOX.

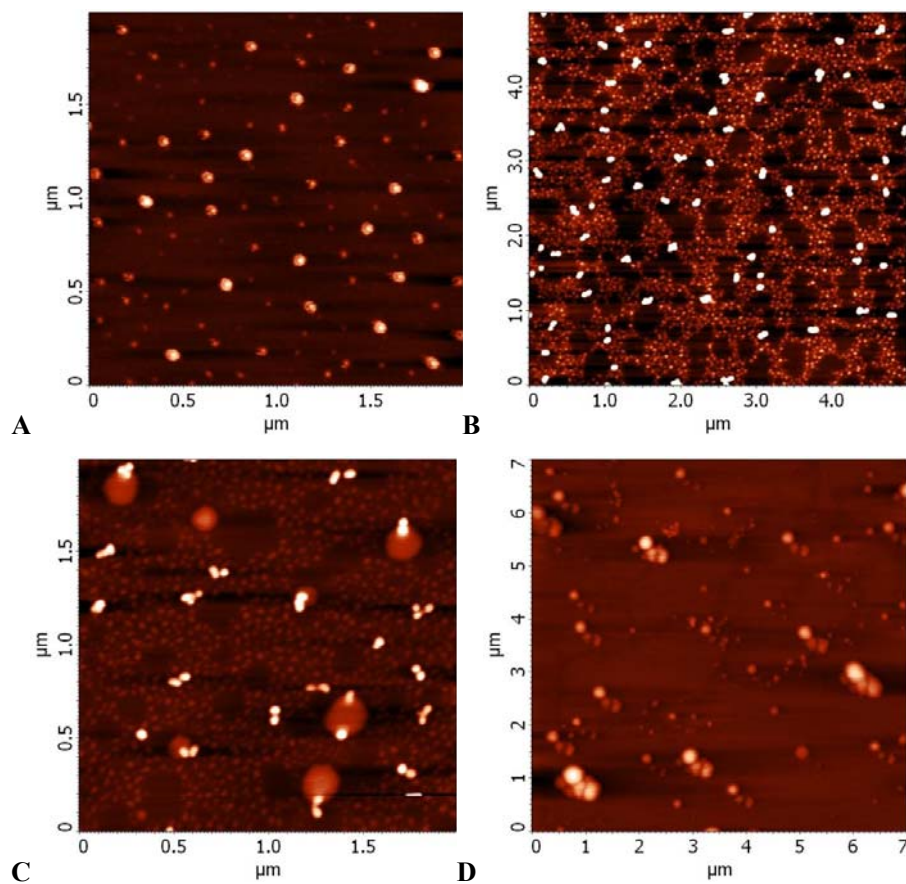


Obr. 4.6. Závislost LS intensity a gyračního poloměru částic (vnitřní graf) na poměru látkového množství CoD^- a látkového množství segmentů polymeru PEO-PEOX při různých koncentracích soli.

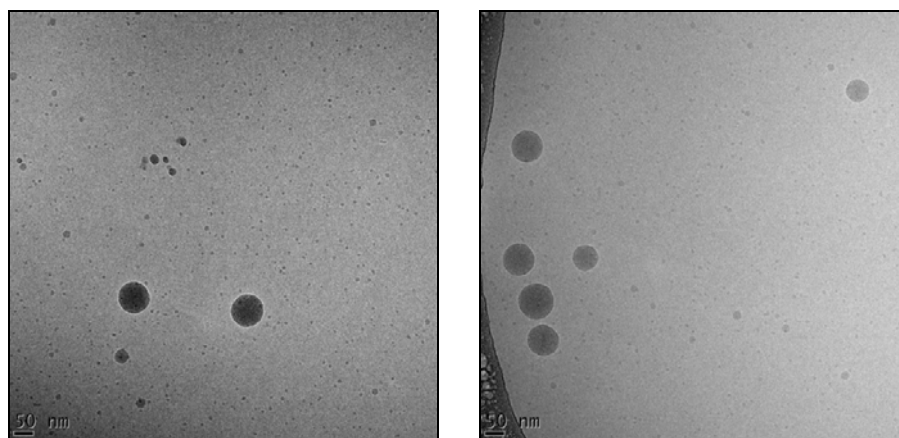
Na Obrázku 4.7 jsou skeny AFM polymeru PEO-PEOX při různé koncentraci soli a NaCoD. Na obrázku jsou částice viditelné jako světlejší objekty. Vzhledem k tomu, že metodou AFM zkoumáme nanočástice na povrchu slídy v „suchém“ stavu, jsou velikosti, polydispersita a tvar částic částečně zkresleny. Přes toto omezení, potvrzují AFM skeny trendy pozorované pomocí rozptylu světla.

Vhodnější metodou pro studium polymerních nanočástic než AFM je cryo-TEM. Vzhledem ke stabilitě a podmínkám blízkým fyziologickému roztoku jsme důkladněji studovali vzorek s poměrem 0,15 CoD^-/seg . PEO-PEOX v 0,1M NaCl. Na cryo-TEM mikrografech (Obr. 4.8) jsou zřetelné kulové nanočástice, jejichž velikost je srovnatelná s výsledky rozptylu světla. Pro tento vzorek byl také změřen statický a dynamický Zimmův diagram (statický Zimmův digram na Obr. 4.9). Jejich analýzou bylo zjištěno, že gyrační i hydrodynamický poloměr nanočástic je roven 69 nm, tudíž $R_g / R_h = 1$, což je hodnota charakteristická pro vezikuly. Na některých cryo-TEM snímcích byly viditelné sférické částice s kontrastnějšími konturami, což by opět

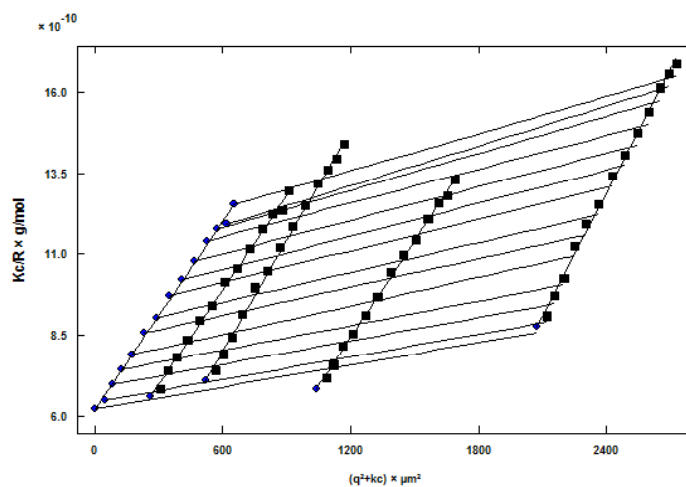
ukazovalo na přítomnost vezikul. Jejich přítomnost však dosud nebyla jednoznačně prokázána a bude to předmětem dalšího výzkumu. Z tvaru Zimmova diagramu (Obr. 4.9) je mimo jiné zřejmé, že nanočástice jsou stabilní i při několikanásobném naředění 0,1M roztokem NaCl.



Obr. 4.7. Skeny AFM částic $\text{CoD}^-/\text{PEO-PEOX}$ pro poměr 0,07 CoD^-/seg . (A) v čistý vodě; (B) v 0,01M NaCl; (C) v 0,1M NaCl; (D) v 0,1M NaCl pro poměr 0,15 CoD^-/seg . (změřil ing. Mariusz Uchman, Ph.D.)



Obr. 4.8. Cryo-TEM skeny vodného roztoku PEO-PEOX s poměrem 0,15 CoD⁻/seg. v 0,1M NaCl. (změřili Dr. Antti Nykänen a prof. Janne Ruokolainen, Aalto University, Finsko)



Obr. 4.9. Zimmův diagram pro NaCoD a PEO-PEOX v 0,1M roztoku NaCl s poměrem 0,15 CoD⁻/seg; měřeno v koncentračním rozmezí polymeru od 0,05 do 0,4 g/L.

5. Závěr

V předložené bakalářské práci bylo studováno chování blokových kopolymerů PS-PEO 1, PS-PEO 2 a PEO-PEOX ve vodě a jejich interakce s metallakarborem NaCoD pomocí rozptylu světla a mikroskopických metod (AFM a cryo-TEM). Pomocí dialyzačních experimentů bylo zjištěno, že aniont CoD^- interaguje s oběma bloky polymeru PEO-PEOX, zatímco v případě PS-PEO pouze s PEO blokem. Přítomnost NaCl má vliv na složení vzniklých komplexů, zvyšuje množství CoD^- vázaného v komplexu s polymery. Také bylo pozorováno, že komplex CoD^- s PEOX je na rozdíl od toho s PEO rozpustný ve vodě.

Pomocí rozptylových metod bylo potvrzeno, že PS-PEO vytváří ve vodném roztoku monodisperzní micely, v kterých hydrofobní PS blok vytváří micelární jádro a hydrofilní PEO blok tvoří obal micely. PEO-PEOX je ve vodě molekulárně rozpustný, v jeho vodném roztoku byly pozorovány volné řetězce a malé množství větších agregátů.

Při titraci micel PS-PEO metallakarborem bylo zjištěno, že delší řetězce PS-PEO 1 se srážejí při nižší koncentraci metallakboranu než PS-PEO 2 s kratším PEO blokem, který byl stabilnější. Předpokládá se, že nerozpustný CoD^- /PEO komplex vytváří vrstvu kolem PS jádra, což vede ke vzniku multimicelárních agregátů.

Vodný roztok polymeru PEO-PEOX při nízkých koncentracích NaCoD obsahoval malé částice rozpuštěného polymeru a také menší množství velkých částic, které nebyly příliš stabilní, mohli dále agregovat a jejich velikost závisela na koncentraci soli. Když koncentrace NaCoD dosáhla poměru 0,046 CoD^- /seg., v roztoku byl převážně jeden typ částic s relativně malou polydispersitou. Při vyšší koncentraci CoD^- (0,15 CoD^- /seg.) zůstal stabilní pouze 0,1M roztok NaCl s úzkou distribucí stabilních částic o poloměru 69 nm. Roztoky v čisté vodě a v 0,01M NaCl se vysrážely. Stabilní částice v 0,1M NaCl mají kulový tvar a výsledky, SLS, DLS a cryo-TEM naznačují, že by se mohlo jednat o vezikuly. Jejich přítomnost však dosud nebyla jednoznačně prokázána a spolu s neobjasněnou strukturou komplexu CoD^- /PEOX bude předmětem dalšího výzkumu.

Literatura

1. Vespalec, R.; Horáková, H.; Langauf, A. *Chem. Listy* **2006**, *100*, 571.
2. Smith, I. C.; Hughes, R. J.; Lawless, W. H. *Production of Boranes and Related Research*, 1st ed.; Academic Press: New York, 1967.
3. Plešek, J. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 269.
4. Valliant, J. F.; Guenther, K. J.; King, A. S.; Morel, P.; Schaffer, P.; Sogbein, O. O.; Stephenson, K. A. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *232*, 173.
5. Lesnikowski, Z. J.; Shi, J.; Schinazi, R. F. J. *Organomet. Chem.* **1999**, *581*, 156.
6. Soloway, A. H.; Tjarks, W.; Barnum, B. A.; Rong, F. G.; Barth, R. F.; Codogni, I. M.; Wilson, J. G. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1515.
7. Hawthorne, M. F.; Maderna, A. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3421.
8. Teixidor, F.; Vinas, C.; Demonceau, A.; Nunez, R. *Pure Appl. Chem.* **2003**, *75*, 1305.
9. Green, J.; Cohen, M. S.; Kotloby, A. P.; Mayes, N.; O'Brien, E. L.; Fein, M. M. J. *Polym. Sci., Part B: Polym. Lett.* **1964**, *2*, 109.
10. Crespo, E.; Gentil, S.; Vinas, C.; Teixidor, F. J. *Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 18381.
11. Armstrong, A. F.; Valliant, J. F. *Dalton Trans.* **2007**, *38*, 4240.
12. Cigler, P.; Kozisek, M.; Rezacova, P.; Brynda, J.; Otwinowski, Z.; Pokorna, J.; Plešek, J.; Gruner, B.; Doleckova-Maresova, L.; Masa, M.; Sedlacek, J.; Bodem, J.; Krausslich, H. G.; Kral, V.; Konvalinka, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 15394.
13. Kozisek, M.; Cigler, P.; Lepsik, M.; Fanfrlik, J.; Rezacova, P.; Brynda, J.; Pokorna, J.; Plešek, J.; Gruner, B.; Grantz Saskova, K.; Vaclavikova, J.; Kral, V.; Konvalinka, J. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4839.
14. Debnath, A. K.; Jiang, S. B.; Strick, N.; Lin, K.; Kahl, S. B.; Neurath, A. R. *Med. Chem. Res.* **1999**, *9*, 267.
15. Muck, A. *Základy strukturní anorganické chemie*. 1. vyd. Praha. Academia, 2006. 508 s. ISBN 80-200-1326-1.

16. Hawthorne, M. F.; Young, D. C.; Wegner, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1818.
17. Rais, J.; Gruner, B. *SolVent extraction*; Marcus, I., SenGupta, A. K., Eds.; Marcel Dekker: New York, 2005; p 243.
18. Makrlik, E.; Rais, J.; Base, K.; Plesek, J.; Vanura, P. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1995**, *198*, 359-365.
19. Planas, J. G.; Vinas, C.; Teixidor, F.; Comas-Vives, A.; Ujaque, G.; Lledos, A.; Light, M. E.; Hursthouse, M. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15976.
20. Fanfrlik, J.; Lepsik, M.; Horinek, D.; Havlas, Z.; Hobza, P. *Chem. Phys. Chem.* **2006**, *7*, 1100.
21. Fanfrlik, J.; Hnyk, D.; Lepsik, M.; Hobza, P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 2085.
22. Kohl, N. E.; Emini, E. A.; Schleif, W. A., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1988**, *85*, 4686.
23. Kohl, N. E.; Emini, E.A.; Schleif, W.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1988**, *85*, 4686.
24. Gulnik, S. V.; Afonina, E., and Eissenstaat, M. **2009**. HIV-1 protease inhibitors as antiretroviral agents. V knize: *HIV-1 protease inhibitors as antiretroviral agents* (Lu, C., and Li, A. P., eds), John Wiley and Sons, Inc.
25. Rezacova, P.; Cigler, P.; Matejicek, P.; Pokorna, J.; Gruner, B.; Konvalinka, J. V knize: *Boron Science- New Technologies and Applications*; Hosmane, N. S., Ed.; CRC Press: New York, **2011**; Chapter 1.3.
26. Matejicek, P.; Cigler, P.; Prochazka, K.; Kral, V. *Langmuir* **2006**, *22*, 575
27. Matejicek, P.; Cigler, P.; Olejniczak, A. B.; Andrysiak, A.; Wojtczak, B.; Prochazka, K.; Lesnikowski, Z. *J. Langmuir* **2008**, *24*, 2625.
28. Rak, J.; Kaplánek, R.; Král, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 1045.
29. Uchman, M.; Jurkiewicz, P.; Cigler, P.; Gruner, B.; Hof, M.; Prochazka, K.; Matejicek, P. *Langmuir* **2010**, *26*, 6268.
30. Rak, J.; Tkadlecovka, M.; Cigler, P.; Kral, V. *Chem. Listy* **2008**, *102*, 209.
31. Matejicek, M.; Zednik, J.; Uselova, K.; Plestil, J.; Fanfrlik, J.; Nykanen, A.; Roukolainen, J.; Hobza, P.; Procházka, K. *Macromolecules* **2009**, *42*, 4829.
32. Uchman, M.; Cígler, P.; Gruner, B.; Procházka, K.; Matejíček, P. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *348*, 129.

33. Tuzar, Z.; Kratochvíl, P. In *Surface and Colloid Science*; Matijevic, E., Ed.; Plenum Press: New York, 1993; Vol. 15, p. 1.
34. Hamley I. W. *Physics of Block Copolymers*; Oxford University Press: Oxford, England, 1998.
35. Hadjichristidis, N.; Pispas, S.; Floudas, G. A. *Block Copolymers. Synthetic Strategies, Physical Properties, and Applications*; John Wiley and Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2003.
36. Bliznyuk, V. N.; Assender, H. E.; Briggs, G. A. D. *Macromolecules* **2002**, *35*, 6613.
37. Kawaguchi, D.; Tanaka, K.; Kajiyama, T.; Takahara, A.; Tasaki, S. *Macromolecules* **2003**, *36*, 1235.
38. Tsitsilianis, C.; Chaumont, P.; Rempp, P. *Makromol. Chem.* **1990**, *191*, 2319.
39. Stolnik, S.; Illum, L.; Davis, S.S. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1995**, *16*, 195.
40. Litzinger, D. C. ; Buiting, A.M.; Van Rooijen, N.; Huang. L. *Biochim. Biophys. Acta.* **1994**, *1190*, 99.
41. Kataoka, K.; Harada, A.; Nagasaki, Y. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *47*, 113.
42. Kabanov, A.; Batrakova, E. V.; Melik-Nubarov, N. S.; Fedoseev, N. A.; Dorodnich, T. Y.; Alakhov, V.; Chekhonin, V. P.; Nazarova, I. R.; Kabanov, V. A. *J. Control. Release* **1992**, *22*, 141.
43. Lavasanifar, A.; Samuel, J.; Kwon, G. S. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2002**, *54*, 169.
44. Adams, N.; Schubert, U. S. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2007**, *59*, 1504.
45. Wattendorf, U.; Merkle, H. P. *J. Pharm. Sci.* **2008**, *97*, 4655.
46. Lee, S. C.; Kim, C.; Kwon, I. C.; Chung, H.; Jeong, S. Y. *J. Controlled Release* **2003**, *89*, 437.
47. Hsiue, G. H.; Chiang, H.-Z.; Wang, C.-H.; Juang, T.-M. *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 781.
48. Kratochvíl, P. In *Classical Light Scattering from Polymer Solutions, Polymer Science Library 5*; Jennkins, A. D., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 1987.
49. Sedláč, M. Polyelectrolytes in solution. In Brown W., Ed. *Light Scattering. Developments and Principles*; Clarendon Press: Oxford, England, 1996.
50. Berne, B. J.; Pecora, R. *Dynamic Light Scattering*, J. Wiley-Interscience: New York, 1976.